

Title	Structural studies on three enzymes which cleave the peroxide or glycosidic bond
Author(s)	門, 祐示
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59164
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 門 祐 示

博士の専攻分野の名称 博 士 (工学)

学 位 記 番 号 第 2 5 4 8 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 24 年 3 月 22 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

工学研究科応用化学専攻

学 位 論 文 名 Structural studies on three enzymes which cleave the peroxide or glycosidic bond

(ペルオキシド又はグリコシド結合を切断する 3 種の酵素の構造学的研究)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 井 上 豪

(副査)

教 授 林 高 史 教 授 宇 山 浩 教 授 桑 畑 進

教 授 大 島 巧 教 授 南 方 聖 司 教 授 今 中 信 人

教 授 平 尾 俊 一 教 授 町 田 憲 一 教 授 安 藤 陽 一

教 授 古 澤 孝 弘

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、3種の酵素、Peroxiredoxin (Prx), Prostaglandin D synthase (PGDS) 及び β -Glucosidase (BGL) に関してX線構造解析を行い、得られた各酵素の三次元構造に基づいた結果及び考察が記載されている。緒言、本論3章、及び総括から構成されている。

緒言では、ペルオキシド結合とグリコシド結合について説明した。本論文での3種の酵素の基質は、全てペルオキシド結合もしくはグリコシド結合を持つ。これらの結合を含む化合物を基質とする上記3種の各酵素に対し、機能や特徴に関して重要な点を説明した。第1章ではPrxの反応機構、第2章ではPGDSの構造機能相関、第3章ではBGLの耐熱性について論じられており、各酵素の研究の背景もここで述べた。

第1章では、Prxの結晶化及びX線構造解析の結果を記載した。Prxとその基質 H_2O_2 との複合体の構造解析を行い、Prxで初となる基質結合型構造の決定に成功した。得られた構造と、還元反応の前後のPrxの構造との比較から、Prxの還元反応における初期段階での反応機構を明らかにした。さらに活性残基に関する変異体についての基質結合型構造の解析結果から、活性残基の機能を同定し、Prxの反応機構の詳細を明らかにした。

第2章では、PGDSについてのX線構造解析及び速度論的解析の結果について記載した。PGDSに対する二種の阻害剤に対し、それぞれPGDSとの複合体構造を解析し、各阻害剤の結合様式の比較から、阻害能の違いについて考察した。また、PGDSの補酵素 Glutathione に対する両阻害剤の速度論的測定から、各阻害剤の Glutathione 対す

る阻害様式を明らかにした。これらの構造機能相関に関する結果から、PGDSに対する、より阻害効果の高い薬剤の分子設計について知見を得た。

第3章では、BGLのX線構造解析の結果を記載した。BGLの構造は既に報告されていたが、分解能が3.3Åと低く、詳細な構造情報は不明であった。そこで新たな結晶化条件を検索し、分解能を2.35Åまで向上させることに成功した。さらに分子ふるいカラムクロマトグラフィー、SDS-PAGEによる分析と、PISA serverを利用した疎水性相互作用面積の計算結果から、BGLの耐熱性の原因が、二量体を形成するBGLの分子境界面にあり、特にC末端部分の疎水性相互作用が重要であることを見出した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、3種の酵素、Peroxiredoxin (Prx), Prostaglandin D synthase (PGDS) 及び β -Glucosidase (BGL) に関してX線構造解析を行い、得られた各酵素の三次元構造に基づいた結果及び考察が記載されている。緒言、本論3章、及び総括から構成されている。

緒言では、ペルオキシド結合とグリコシド結合について説明している。本論文での3種の酵素の基質は、全てペルオキシド結合もしくはグリコシド結合を持つ。これらの結合を含む化合物を基質とする上記3種の各酵素に対し、機能や特徴に関して重要な点を説明している。第1章ではPrxの反応機構、第2章ではPGDSの構造機能相関、第3章ではBGLの耐熱性について論じられており、各酵素の研究の背景もここで述べられている。

第1章では、Prxの結晶化及びX線構造解析の結果が記載されている。Prxとその基質 H_2O_2 との複合体の構造解析を行い、Prxで初となる基質結合型構造の決定に成功している。得られた構造と、還元反応の前後のPrxの構造との比較から、Prxの還元反応における初期段階での反応機構を明らかとし、活性残基に関する変異体についての基質結合型構造の解析結果から、活性残基の機能を同定し、Prxの反応機構の詳細を明らかとしている。

第2章では、PGDSについてのX線構造解析及び速度論的解析の結果について記載されている。PGDSに対する二種の阻害剤に対し、それぞれPGDSとの複合体構造を解析し、各阻害剤の結合様式の比較から、阻害能の違いについて考察されている。また、PGDSの補酵素 Glutathione に対する両阻害剤の速度論的測定から、各阻害剤の Glutathione に対する阻害様式を明らかとしている。これらの構造機能相関に関する結果から、PGDSに対する、より阻害効果の高い薬剤の分子設計について知見を見出している。

第3章では、BGLのX線構造解析の結果が記載されている。BGLの構造は既に報告されていたが、分解能が3.3Åと低く、詳細な構造情報は不明であった。そこで新たな結晶化条件を検索した結果、2.35Åまで分解能を向上させることに成功している。さらに分子ふるいカラムクロマトグラフィー、SDS-PAGEによる分析と、PISA serverを利用した疎水性相互作用面積の計算結果から、BGLの耐熱性の原因が、二量体を形成するBGLの分子境界面にあり、特にC末端部分の疎水性相互作用が重要であることを見出している。

以上のように、本論文はPrxの反応機構、H-PGDSの構造機能相関、BGLpfの耐熱性に関する重要な知見を与えている。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。